

Sobre as variações cíclicas do cariozoma em duas espécies de ciliados parasitos.

Contribuição para o estudo do nucleo nos infuzorios

PELO

Dr. Carlos Chagas

(Chefe de serviço.)

(Com as estampas 9 e 10)

Über die zyklischen Variationen des Caryosoms bei zwei Arten parasitischer Ciliaten.

Beitrag zum Studium des Infusorienkernes

VON

Dr. Carlos Chagas

(Abteilungsvorsteher am Institute.)

(Mit Tafeln 9 u. 10)

Vizamos tratar, neste pequeno estudo de duas espécies de infuzorios parasitos, dos aspetos nucleares observados, que nos parecem autorizar a aplicação aos nucleos dos infuzorios da teoria de HARTMANN sobre variações cíclicas do cariozoma.

Até agora os nucleos dos infuzorios, considerados como tipo dos nucleos em massa, pareciam escapar á condição geral dos nucleos cariozomicos, não sendo nelles applicaveis as ideas de HARTMANN e v. PROWAZEK sobre a duplicidade nuclear. A existencia mesma de cariozoma no nucleo de infuzorios só raramente tem sido assinalada, não sendo considerados tais, pela maioria dos autores, corpusculos cromaticos mais ou menos volumozos, encontrados na trama acromatica que constitue a massa

In dieser kurzen Untersuchung über zwei Arten parasitischer Infusorien beabsichtige ich, die an den Kernen beobachteten Erscheinungen zu besprechen, welche, wie mir scheint, gestatten, die Theorie von HARTMANN über zyklische Variationen des Karyosoms auf die Kerne der Infusorien auszudehnen.

Bis jetzt wollte es scheinen, als ob die Kerne der Ziliaten, welche als Typus der massiven Kerne galten, von der allgemeinen Regel des Karyosomkernes eine Ausnahme bildeten, auf welche sich die Ideen von HARTMANN und v. PROWAZEK über die Doppelkernigkeit nicht anwenden liessen. Selbst das blosse Vorkommen eines Karyosoms im Infusorienkerne war nur selten konstatiert worden, indem von den meisten Autoren die, mehr oder weniger volumösen, Chromatinkörperchen, welche in dem achromatischen Gerüste der Zentralmasse ver-

central dos nucleos de varias especies de ciliados.

V. PROWAZEK, no macronucleo do *Leucophrys patula*, assinalou a existencia inconstante de um cariozoma e, pela primeira vez, nelle refere a existencia de processos ciclicos.

A teoria de HARTMANN sobre variações ciclicas do cariozoma poderá ser sintetizada do modo seguinte :

O cariozoma, munido sempre de um centriolo (e o centriolo caracteriza como cariozomas os corpusculos cromaticos) experimenta mutações ciclicas nas quais é expelida para a periferia do nucleo a cromatina, dispendo-se esta ora em circulos concentricos, ora de modo irregular, na trama de linina, ora finalmente na face interna da membrana nuclear. O fenomeno poderá ir muito lonje, de modo que a totalidade da cromatina do cariozoma se difunda na substancia do nucleo exterior, restando no centro apenas o centriolo, em torno do qual, por fenomenos de sinteze, será reconstituído o cariozoma. Daí os aspetos variaveis, em relação á disposição da cromatina, que se podem observar no nucleo em repouzo de um mesmo protozoario ; daí ainda a conveniencia de se modificar a concepção de duplicidade nuclear nos nucleos de cariozoma, compreendendo-a como duplicidade de componentes nucleares. A nova doutrina das variações ciclicas do cariozoma foi formulada por HARTMANN em estudos sobre a citolojia da *Amoeba tetragena*, encontrando depois novos elementos de confirmação nos aspetos nucleares da *Entamoeba testudinis* e de diversos flajelados, relevando salientar, entre os ultimos, a *Cyathomonas truncata*, cujo nucleo em repouzo constitue uma das mais belas demonstrações daquele fenomeno (Fig. 49, 50 e 51, Estampa, 7 dos Estudos sobre flajelados de HARTMANN e CHAGAS, 1910). Na definição de nucleo, segundo HART-

schiedener Ziliatenkerne vorkommen, nicht als solche angesehen wurden.

V. PROWAZEK gab im Makronukleus von *Leucophrys patula* das unbeständige Vorkommen eines Karyosoms an und erkannte zuerst das Bestehen zyklischer Prozesse.

Die Theorie von HARTMANN über das Vorkommen zyklischer Veränderungen am Karyosom lässt sich wie folgt, zusammenfassen :

Das Karyosom, welches stets ein Zentriol enthält und durch dieses einfachen Chromatinkörperchen gegenüber charakterisiert wird, macht zyklische Veränderungen durch, während welcher das Chromatin nach der Peripherie des Kernes wandert und sich, bald in konzentrischen Kreisen, bald unregelmässig im Liningerüst oder endlich an der Innenseite der Kernmembran ablagert. Die Erscheinung kann so weit gehen, dass das gesammte Chromatin des Karyosoms in die Substanz des Aussenkernes austritt und im Zentrum nur das Zentriol zurückbleibt, um welches sich durch synthetische Prozesse das Karyosom rekonstituiert. So erklären sich die verschiedenen Bilder der Chromatinverteilung, die man im ruhenden Kerne desselben Protozoen beobachten kann und lässt sich eine veränderte Auffassung der Doppelkernigkeit der Karyosomkerne begründen, indem sie als Duplizität der Nuklearkomponente aufgefasst wird. Die neue Lehre von den zyklischen Veränderungen des Karyosoms wurde von HARTMANN bei seinen Untersuchungen über die Zytologie der *Amoeba tetragena* aufgestellt und er fand weitere Bestätigung in den Kernbildern der *Amoeba testudinis* und verschiedener Flagellaten, von welchen die *Cyathomonas truncata* hervorgehoben zu werden verdient, deren ruhender Kern eines der schönsten Beispiele dieser Erscheinung bietet (s. Flagellatenstudien von HARTMANN und CHAGAS, T. VII, Fig. 49, 50 und 51). Nach HARTMANN figurirt das Zentriol bei der Definition des Kernes als ein wesentliches Organ, indem es eine Energide representiert und das dirigierende

MANN, figura o centriolo como orgam essencial, representando elle uma *enerjide* e constituindo o centro diretor dos fenomenos de metabolismo nuclear e de multiplicação dos nucleos. Assinalado em numerosos grupos de protozoarios, sel-o-á de certo naqueles em que não foi possível até agora observalo.

A auzencia aparente de cariozoma e de centriolo nos denominados nucleos veziculozos sem cariozoma e nos nucleos em massa seria explicada, segundo HARTMANN, pela difusão total do cariozoma no nucleo exterior, até ao centriolo, em virtude das variações ciclicas do cariozoma; daí resulta a impossibilidade de se reconhecer o centriolo na estrutura alveolar, impregnada de cromatina. Será este o caso dos nucleos de infuzorios?

Vamos referir nossas observações. Trataremos especialmente dos aspetos nucleares, não nos tendo sido possível completar o estudo biologico das duas especies de infuzorios referidos.

BALANTIDIUM (?) LITTORINAE.

Duas formas bem distintas, quer pelas dimensões, quer mesmo pelo aspeto exterior, apresenta este ciliado examinado em vida. Uma das formas, notavelmente maior, mostra os seguintes caracteres: Corpo alongado, asimetrico, com uma das bordas levemente convexa a outra levemente concava com uma das extremidades, a que fica na frente durante o movimento, afilada e a outra mais larga, apresentando esta ultima uma abertura munida de um feixe de cilios muito compridos.

Espalhados sobre toda a superficie externa de modo regular, ha cilios longos, movendo-se em ondulações apreciaveis. Estriações numerosas longitudinais sobre toda a superficie, constituídas de finas granulações, pontos de implantação dos cilios. A abertura bucal, pela qual emergem cilios mais longos do que os da superficie. é limitada por duas dobras salientes, sendo maior a saliencia da borda convexa. A abertura bucal é continuada por uma fenda afunilada que vai ter ao endoplasma.

Zentrum bei den Stoffwechsellerscheinungen und der Vermehrung der Kerne vorstellt. Bei zahlreichen Gruppen von Protozoen beobachtet, ist dasselbe zweifellos auch bei denen zu erwarten, in denen sein Nachweis bisher nicht stattfand.

Die scheinbare Abwesenheit von Karyosom und Zentriol in den sogenannten bläschenförmigen und in den massiven Kernen lässt sich nach HARTMANN durch die allgemeine Verteilung des Chromatins im Aussenkern bis an das Zentriol, als Folge der cyklischen Veränderungen des Karyosoms, erklären; es folgt daraus die Unmöglichkeit, das Zentriol in dem mit Chromatin imprägnierten wabigen Gerüste zu erkennen. Sollte dies nicht auch bei den Kernen der Infusorien der Fall sein?

Ich gehe zum Bericht über meine Beobachtungen über und werde besonders die Kernbilder besprechen, da es mir vor der Hand nicht möglich ist, das biologische Studium der beiden erwähnten Infusorienarten zu vollenden.

BALANTIDIUM (?) LITTORINAE.

Dieser Ziliat zeigt zwei, durch Grösse und andere Kennzeichen verschiedene, Formen. Die eine, bedeutend grössere, bietet während des Lebens folgende Charaktere: Verlängerter, assymetrischer Körper mit einem etwas konkaven und einem leicht konvexen Seitenrande, so wie einem zugespitzten, bei der Bewegung voraushenden, und einem breiteren Ende, welches eine, mit einem Büschel sehr langer Zilien versehene, Oeffnung zeigt. Auf der ganzen Aussenfläche regelmässig verteilte, lange Wimperhaare, deren Basis zahlreiche, aus feinen Körnchen bestehende, Längsstreifen bildet, zeigen deutliche Wellenbewegungen. Die Mundöffnung, aus welcher Zilien hervorragen, welche die der Oberfläche an Länge übertreffen, ist von zwei vorspringenden Falten begrenzt, deren grössere am konvexen Rande liegt. Die Mundöffnung setzt sich in eine trichterförmige Spalte fort, welche zum Endoplasma führt.

Na extremidade posterior, junto á borda convexa, existe um vacuolo, não pulsátil, permanente.

O macronucleo, no estado vivo, é apreciável como uma massa alongada, refringente, granulosa, colocada no meio do organismo. O micronucleo, difficilmente vizível em vida, acha-se colocado entre o macronucleo e a extremidade anterior.

A forma pequena distingue-se da precedente, no estado vivo, principalmente pelas dimensões consideravelmente menores e ainda pelo aspeto da extremidade posterior, onde as bordas da abertura bucal ficam num mesmo plano (fig. 1, est. 9).

ESTUDO EM PREPARADOS CÔRADOS.

Tecnica.

Todos os preparados foram feitos em esfregaços, sendo os parasitos fixados no meio natural pelo sublimado-alcool (segundo SCHAUDINN) e em liquido de HERMANN. A coloração foi realizada pela hematoxilina ferrea de HEIDENHAIN e tambem, como contraprova, pela hematoxilina de DELAFIELD.

Estrutura nuclear.

O macronucleo e o micronucleo apresentam nas duas formas do infuzorio a mesma estrutura, pelo que daremos descrição de conjunto.

Macronucleo.

Grandes variantes de aspeto, relativas á disposição da cromatina á presença ou auzencia de cariozoma, são observadas no macronucleo. Este mostra, como partes essenciaes, uma membrana nuclear de contornos nitidos, um espaço claro (zona de suco nuclear) onde não é apreciável qualquer estrutura cromatica ou acromatica, e no centro uma massa volumosa, de aspeto granuloso, com a cromatina distribuida de modos varios. O estudo desta disposição da substancia cromatica, ligada seguramente ás variações ciclicas do cario-

Nahe dem konvexen Rande findet sich an Hinterende eine permanente, nicht pulsierende Vacuole.

Der Makronukleus ist im Leben als eine mitten im Körper liegende, längliche, lichtbrechende und körnige Masse sichtbar ; der schwer erkennbare Mikronukleus liegt zwischen Vorderende und Makronukleus.

Die kleinere Form unterscheidet sich im Leben von der eben beschriebenen besonders durch die weit geringeren Dimensionen und überdies durch die Bildung des Hinterendes, wo die Ränder der Mundöffnung in derselben Ebene liegen (Fig. 1).

UNTERSUCHUNG GEFÄRBTER PRÄPARATE.

Technik.

Alle Präparate wurden durch Ausstrich hergestellt, indem die Parasiten in ihrem natürlichen Medium mit Sublimat-Alkohol (nach SCHAUDINN) oder HERMANN'scher Flüssigkeit fixiert wurden. Die Färbung geschah durch Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN und als Gegenprobe durch DELAFIELD'sche Hämatoxylinlösung.

Kernstruktur.

Der Makro- und Mikronukleus zeigen bei beiden Formen dieselbe Struktur, so dass ich eine gemeinschaftliche Beschreibung geben kann.

Makronukleus.

In Hinsicht auf die Lagerung des Chromatins, sowie das Fehlen oder Vorkommen eines Karyosoms, zeigen sich beim Makronukleus sehr verschiedene Bilder. Wesentliche Bestandteile sind eine scharf umschriebene Kernmembran, ein heller Raum (Kernsaftzone), in dem weder chromatische, noch achromatische Strukturen erkennbar sind und im Zentrum eine volumöse Masse mit verschiedentlich verteiltem Chromatin. Das Studium der Anordnung dieser Chromatinsubstanz, welche zweifellos mit den zyklischen Veränderungen des

zoma, constitue o objetivo principal desse trabalho.

A cromatina, ora se acha distribuida regularmente em finas granulações iguais, sem que, em tais nucleos, seja vizivel cariozoma ou algum corpusculo identificavel ao centriolo (figs. 2 e 3, est. 9); ora as granulações cromaticas são maiores, desiguais entre si e irregularmente dispostas sobre a trama de substancia acromatica (figs. 4 e 5, est. 9). O primeiro estágio indica a condição de difusão extrema da cromatina na substancia acromatica e o segundo um estado anterior, em que a cromatina expelida pelo cariozoma ainda se encontra distribuida em massas maiores.

Em outros nucleos encontram-se cariozomas bem tipicos, cuja estrutura (figs. 6 e 7, est. 9) é a seguinte: uma massa central compacta de cromatina, circumdada de um halo claro, sendo este limitado por uma especie de membrana. Para fóra dessa membrana, outro halo claro, que se continúa insensivelmente com a massa granulosa geral.

As dimensões do cariozoma são muito variaveis, o que se relaciona com as fazes sucessivas das variações ciclicas. Em alguns nucleos (fig. 8, est. 9) só se representa o cariozoma por um corpusculo minimo, que talvez seja o centriolo, caracterizado como tal pelo halo claro que o circumda.

Outras granulações maiores de cromatina distinguem-se perfeitamente de cariozomas pela ausencia de circulo claro em torno dellas (fig. 9, est. 9).

Alguns macronucleos apresentam um unico cariozoma (fig. 7, est. 9); em outros encontram-se dois e ás vezes maior numero (figs. 6 e 8, est. 9).

Aspetos que devem ser interpretados como divizão de centriolos, observámos muitas vezes (figs. 10 e 8, est. 9). E' frequente encontrarem-se parasitos com diversos macronucleos (fig. 11, est. 9);

Karyosoms in Verbindung steht, bildet die Hauptaufgabe der vorliegenden Arbeit.

Das Chromatin findet sich bald in feinen und gleichmässigen Körnchen regelmässig verteilt, wobei in den Kernen weder ein Karyosom, noch ein mit dem Zentriol vergleichbares Körperchen erkennbar ist (Fig. 2, 3), bald sind die Chromatinkörner grösser, unter sich verschieden und unregelmässig über das Gerüst achromatischer Substanz verteilt (Fig. 4, 5). Der erste Zustand weist auf die höchste Verteilung des Chromatins über die achromatische Substanz hin, der zweite auf ein früheres Stadium, in welchem sich das vom Karyosom ausgeschiedene Chromatin noch in grösseren Massen verteilt findet.

In anderen Kernen findet man ganz typische Karyosomen, deren Struktur (Fig. 6, 7) die folgende ist: eine kompakte, zentrale Chromatinmasse, umgeben von einem hellen Hofe, welcher durch eine Art von Membran begrenzt ist; um diese liegt ein zweiter Hof, der sich unmerklich in die allgemeine körnige Masse fortsetzt.

Die Dimensionen des Karyosoms wechseln sehr, der Reihenfolge der zyklischen Veränderungszustände entsprechend. In einigen Kernen ist das Karyosom nur als kleinstes Körperchen vertreten, welches vielleicht dem Zentriol entspricht und sich als solches durch den umgebenden hellen Hof kennzeichnet.

Andere grössere Chromatinkörner unterscheiden sich deutlich von Karyosomen durch den Mangel eines sie umgebenden hellen Kreises (Fig. 9). Der Makronukleus zeigt manchmal ein einziges Caryosoma (Fig. 7), andere Male zwei und manchmal eine grössere Zahl (Fig. 6, 8).

Häufig beobachtete ich Bilder, welche als eine Teilung der Zentriolen aufgefasst werden müssen (Fig. 10, 8). Oft finden sich auch Parasiten mit mehreren Makronuklei (Fig. 11) und in diesem Falle erscheint jeder derselben als eine rundliche Masse, die bedeutend grösser ist, als der einzelne Makronukleus der gewöhnlichen Formen, jedoch dieselbe Struktur zeigt.

neste caso cada um delles se apresenta como uma massa arredondada, consideravelmente menor do que o macronucleo unico das formas comuns, apresentando a mesma estrutura daquelle. Estará em relação esta multiplicidade de macronucleos com fenomenos de conjugação e subsequentes a estes?

As dimensões variaveis do cariozoma no macronucleo, a disposição aí da cromatina em granações cujo tamanho é variavel, encontrando-se ou massas cromaticas maiores e irregulares, ou finissimos granulos; a presença de pequeninos corpusculos caracterizaveis como centriolos (fig. 8, est. 9) e que representam talvez o estadio ultimo de expulsão da cromatina do cariozoma, tudo isso parece indicar neste ciliado a existencia de variações ciclicas do cariozoma, comparaveis ás verificadas por HARTMANN em entamebas e em flagelados diversos. Registramos nossas observações interpretando-as de acordo com a teoria de nosso mestre M. HARTMANN; naturalmente, porém, julgamos necessarias novas pesquisas sobre a estrutura dos nucleos dos infusorios, afim de confirmar e de generalizar o fenomeno nesse grupo de protozoarios.

Micronucleo.

O micronucleo acha-se colocado entre o macro-nucleo e a extremidade anterior do parasito, á alguma distancia daquelle. Mostra uma membrana nuclear, ás vezes, muito nitida, limitando uma zona clara (zona de suco nuclear) em cujo interior existe uma massa esferica, pouco rica em cromatina que apresenta no centro um corpusculo cromatico muito caracteristico e bastante constante (centriolo?) (figs. 2, 3, 4 e 12, est. 9).

Encontram-se estadios muitos tipicos de mitoze do micronucleo. Na Fig. 2 parece háver uma divizão previa do centriolo. Na Fig. 7 observa-se um estadio de fuзо, com a substancia acromatica disposta no centro, em fibrilas transversais, e a cromatina formando duas placas polares de concavidade

Steht wohl diese Multiplizität der Makronuklei mit Konjugationsvorgängen in Verbindung und stellt einen Folgezustand dar?

Die wechselnden Grössenverhältnisse des Karyosoms im Makronukleus und die Anordnung des Chromatins in demselben als Körner von wechselnder Grösse, wobei grössere unregelmässige Chromatinmassen oder feinste Körnchen vorkommen, das Auftreten kleiner Körperchen, die sich als Zentriolen ansprechen lassen (Fig. 8) und vielleicht das letzte Stadium des Chromatinaustrittes aus dem Kerne darstellen, alles dies scheint bei diesem Ziliaten das Vorkommen zyklischer Karyosomveränderungen anzuzeigen, welche sich mit den von HARTMANN bei Entamoeben und verschiedenen Flagellaten festgestellten vergleichen lassen. Ich verzeichne meine Beobachtungen, indem ich sie im Einklange mit der Theorie meines Lehrers erkläre, doch halte ich natürlich weitere Untersuchungen über die Struktur der Infusorienkerne für notwendig, um die Vorgänge bei dieser Protozoengruppe zu bestätigen und zu verallgemeinern.

Mikronukleus.

Der Mikronukleus liegt zwischen Makronukleus und Vorderende des Parasiten, etwas entfernt von dem letzteren. Er zeigt eine, manchmal sehr deutliche, Kernmembran, die eine klare Kernsaftzone begrenzt; im Innern der letzteren findet sich eine runde, chromatinarme Masse, welche im Zentrum ein sehr charakteristisches und ziemlich konstantes Chromatinkörperchen (Zentriol?) aufweist (Fig. 3, 12, 2, 4).

Es kommen sehr typische Mitosenstadien des Mikronukleus vor. In Fig. 2 scheint eine vorläufige Teilung des Zentriols vorzuliegen. In Figur 7 sieht man eine Spindelbildung, bei welcher die achromatische Substanz im Zentrum in Querfasern angeordnet ist und das Chromatin zwei Polplatten mit nach Innen gewandter Konkavität bildet, welche durch ein Chromatin-

voltada para dentro, ligadas por filamento cromático (filamento central?). Na figura 10, finalmente, observa-se o estadio terminal da mitose, no qual a cromatina das placas polares já se acha aglomerada em duas massas esfericas que permanecem ligadas pela centrodesmoze.

BALANTIDIUM TESTUDINIS.

Este grande ciliado do intestino de uma tartaruga (*Testudo graeca*) onde é encontrado em grande abundancia, apresenta bem nitidos os caracteres do genero *balantidium*, devendo ser nelle incluido.

Pelo exame em vida observa-se (fig. 13, est. 10): Citostomo colocado na extremidade anterior, sendo a abertura bucal continuada por uma larga fenda, mais ou menos cilindrica, de direção obliqua. Cilios longos na abertura bucal. Revestimento de cilios regularmente dispostos em toda a superficie externa do parázito. Estrias longitudinais no periplasma. Cortex constituido de camada homojenea, bastante espessa. Endoplasma alveolar, encerrando muito material de incluzão. Macronucleo oval, de aspeto levemente granuloso, colocado no meio do parázito. Micronucleo não apreciavel pelo exame em vida. Abertura anal na extremidade posterior.

ESTUDO EM MATERIAL CÔRADO.

Estrutura nuclear:

Macronucleo volumoso, com membrana nuclear ás vezes muito nitida, limitando um espaço claro, radialmente cortado por delgadas fibrilas de linina (figs. 14 e 15, est. 10); no centro existe uma grande massa alveolar de substancia acromatica, que apresenta, nas paredes dos alveolos, granulações de cromatina de dimensões muito variaveis, indicando ainda aqui, como no parázito anterior, estadios diversos de difuzão da cromatina (figs. 14, 15, 16, 17, est. 10). Em alguns nucleos (fig. 16) encontram-se aspetos que lembram cario-

filament (Zentralfaser?) verbunden sind. Endlich beobachtet man in Fig. 10 das Endstadium der Mitose, in welchem das Chromatin der Polarplatten bereits in zwei runde Massen geballt erscheint, welche unter sich durch die Zentrodeseose verbunden werden.

BALANTIDIUM TESTUDINIS.

Dieser grosse Ziliat aus dem Darne einer Schildkröte (*Testudo graeca*), welcher daselbst in grosser Menge gefunden wird, zeigt sehr deutlich die Kennzeichen des Genus *Balantidium*, in welches er eingereiht werden muss.

Bei der Untersuchung im Leben (Fig. 13) beobachtet man: Ein am Vorderende gelegenes Zytostom, dessen Oeffnung sich in eine weite, mehr oder weniger zylindrische und schräg gerichtete Spalte fortsetzt. Lange Zilien in der Mundöffnung. — Ueber die ganze Oberfläche regelmässig angeordneter Winperbesatz. Längsstreifen im Periplast. Rindenschicht aus einer homogenen, ziemlich dicken Lage bestehend. Alveoläres Endoplasma mit vielen Einschlüssen.—Ovaler, leicht körnig erscheinender, in der Mitte des Parasiten gelegener, Makronukleus. Mikronukleus bei Untersuchung am lebenden Objekte nicht erkennbar. — Afteröffnung am Hinterende.

UNTERSUCHUNG AM GEFÄRBTEN MATERIALE.

Kernstruktur.

Volumöser Makronukleus mit oft sehr deutlicher Kernmembran, die einen hellen Raum umschreibt, welcher radiär von dünnen Lininfäden durchsetzt wird (Fig. 14, 15); im Zentrum findet sich eine grosse, wabige Masse achromatischer Substanz, welche in den Alveolarwänden Chromatinkörner von wechselnder Grösse zeigt, die auch hier, wie bei dem oben angeführten Parasiten, verschiedene Stadien der Chromatindiffusion anzeigen (Fig. 14, 15, 16, 17). Bei einigen Kernen (Fig. 16) sieht man Bilder, welche an gequollene Ka-

zomas intumecidos, havendo em cada um delles, na massa cromatica, uma zona central de cromatina frouxa, circumdada por uma oila de cromatina compacta ; por fóra desta ultima existe um halo claro, limitado por delgada membrana de contornos pouco nitidos.

Micronucleo :

O micronucleo deste *balantidium* acha-se colocado, ora muito proximo do macronucleo (fig. 14, 15, 17, est. 10). ora a elle aderente, situado numa depressão da superficie do nucleo principal. Apresenta uma membrana de contornos nitidos, uma zona de suco nuclear, clara e livre de qualquer substancia, e uma massa central pouco rica em cromatina (figs. 14, 17, 18, est. 10). Nas figuras 14 e 15 o micronucleo mostra-se em inicio de divizão, parecendo haver divizão da massa central (cariozoma?) pela formação de uma fenda entre as duas metades. Nenhum outro estadio de divizão observámos no micronucleo deste *balantidium*.

A dispozição da cromatina no macronucleo do *balantidium testudinis* leva-nos a admitir aqui variações ciclicas do cariozoma, comparaveis ás encontradas no ciliado anterior. Naquelles nucleos em que não se encontra cariozoma individualizado, ter-se-á verificado a distribuição total da cromatina delle na massa de substancia acromatica.

Manguinhos, Janeiro de 1911.

EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 9

- Fig. 1. Ciliado da *Littorina* em estado vivo.
Fig. 2. Forma pequena do ciliado, côrada pela hematoxilina de HEIDENHAIN, mostrando a distribuição da cromatina no macronucleo e a estrutura do micronucleo.

ryosomen erinnern und bei jedem derselben findet sich in der Chromatinmasse eine zentrale Zone lockeren Chromatins, von einem Saume kompakten Chromatins eingehüllt ; nach aussen von diesem befindet sich ein heller Hof, der von einer dünnen und nicht scharf umschriebenen Membran begrenzt ist.

Mikronukleus.

Der Mikronukleus dieses *Balantidium* liegt bald sehr nahe am Makronukleus (Fig. 14, 15, 17), bald direkt an demselben, in einer Vertiefung seiner Oberfläche. Er zeigt eine scharf umschriebene Membran, eine klare Kernsaftzone ohne jede Einlagerung und eine zentrale chromatinarme Masse (Fig. 14, 17, 18). In Fig. 14 und 15 zeigt der Mikronukleus den Anfang der Teilung, wobei eine Teilung der zentralen Masse (Karyosom?) durch Bildung einer Spalte zwischen beiden Hälften vorzuliegen scheint. Ein anderes Teilungsstadium habe ich an dem Mikronukleus dieses *Balantidium* nicht beobachtet.

Die Anordnung des Chromatins im Makronukleus des *Balantidium testudinis* veranlasst uns, bei diesem zyklische Veränderungen des Karyosoms anzunehmen, welche mit denjenigen des oben zitierten Flagellaten vergleichbar sind. Bei den Kernen, welche kein individualisiertes Karyosom enthalten, wird eine vollständige Verteilung seiner Chromatinsubstanz in der Masse der achromatischen Substanz vorliegen.

Manguinhos, Januar 1911.

ERKLAERUNG DER TAFEL 9.

- Fig. 1. Ziliat von *Littorina*, nach dem Leben gezeichnet.
Fig. 2. Kleine Form des Ziliaten, mit HEIDENHAIN'schem Hämatoxylin gefärbt, zeigt die Verteilung des Chromatins im Makronukleus und die Struktur des Mikronukleus.

- Fig. 3. Macro- e micronucleos do ciliado da *Littorina* ♀. E' de notar o centriolo no micronucleo.
- Fig. 4. Macro- e micronucleos. — Centriolo do micronucleo. — Cromatina distribuida em granações dezinuais no macronucleo.
- Fig. 5. Macro- e micronucleos do ciliado.
- Fig. 6. Forma grande do ciliado. — Macro-nucleo com 2 cariozomas.
- Fig. 7. Mitoze do micronucleo. — Macro-nucleo com um cariozoma.
- Fig. 8. Centriolos (2) no macronucleo. — Divizão de um dos centriolos.
- Fig. 9. Macronucleo com um cariozoma e uma outra massa de cromatina que se distingue daquelle pela auzenzia do halo claro em torno.
- Fig. 10. Divizão de um centriolo no macronucleo e divizão do micronucleo.
- Fig. 11. Forma grande com diversos macronucleos, cada um delles munido de um cariozoma.

ESTAMPA 10.

- Fig. 12. Centriolo do micro-nucleo.
- Fig. 13. *Balantidium testudinis* no estado vivo.
- Fig. 14. Macro-nucleo do *Balantidium testudinis* — Divizão e estrutura do micro-nucleo.
- Fig. 15. *Balantidium* com 2 macro-nucleos — Dispozição da cromatina em pequenos granulos e na periferia da massa central.
- Fig. 16. Aspeto do citostoma e dispozição da cromatina no micronucleo.
- Fig. 17. Macronucleo mostrando a cromatina em granulos esparsos — Massa central com zona de suco nuclear no micro-nucleo.
- Fig. 18. Macro-nucleo mostrando, numa depressão da superficie, o micro-nucleo.

NOTA : — As figuras 13 a 18 são relativas ao *Balantidium testudinis*.

- Fig. 3. Makro- und Mikronukleus der Ziliaten von *Littorina*. Man beachte das Zentriol im Mikronukleus.
- Fig. 4. Makro- und Mikronukleus — Zentriol des Mikronukleus — Chromatin in Körnern verschiedener Grösse im Makronukleus verteilt.
- Fig. 5. Makro- und Mikronukleus des Ziliaten.
- Fig. 6. Grosse Forme des Ziliaten — Makronukleus mit zwei Karyosomen.
- Fig. 7. Mitose des Mikronukleus — Makronukleus mit einem Karyosom.
- Fig. 8. 2 Centriolen im Makronukleus — Teilung eines der Zentriolen.
- Fig. 9. Makronucleus mit einem Karyosom und einer andern Chromatinmasse, welche sich von ihm durch den Mangel eines umgebenden hellen Hofes unterscheidet.
- Fig. 10. Teilung eines Zentriol im Makronukleus und Teilung des Mikronukleus.
- Fig. 11. Grosse Form mit verschiedenen Makronuklei, von denen jeder ein Karyosom enthält.

TAFEL 10.

- Fig. 12. Zentriol des Mikronucleus.
- Fig. 13. *Balantidium testudinis* lebend.
- Fig. 14. Makronucleus des *Balantidium testudinis* — Teilung und Struktur des Mikronukleus.
- Fig. 15. *Balantidium* mit 2 Makronuklei-Anordnung es Chromatins in kleinen Körnchen und an der Peripherie des zentralen Körpers.
- Fig. 16. Aussehen des Cytostom's und Anordnung des Chromatins im Mikronukleus.
- Fig. 17. Makronukleus, das Chromatin in einzelnen Körnchen zeigend. Zentralkörper mit Kernsaftone im Mikronukleus.
- Fig. 18. Makronucleus in einer oberflächlichen Depression den Mikronukleus zeigend.

ANMERKUNG : — Die Fig. 13—18 beziehen sich auf *Balantidium testudinis*.

